ки: остеоиндуктивный потенциал, доступность получения материала, безопасность, биологическая совместимость, иммунологическое соответствие, скорость васкуляризации (Edward S, Cohen, 1994).

Разнообразие и многочисленность пластических материалов, используемых для восстановления костной ткани при заболеваниях пародонта, в значительной степени говорит скорее об их недостатках, чем о положительных свойствах.

О положительном эффекте лечения пародонтита с использованием культуры аллофибробластов, полученной из дермы плодов человека, недавно заявили отечественные исследователи (В.П. Туманов с соавт., 1998 г.). Данными авторами был разработан новый способ лечения воспалительно-деструктивной формы пародонтита с использованием культуры аллофибробластов человека, заселенных на твердую мозговую оболочку.

В своей диссертационной работе «Использование культивированных аллофибробластов в комплексном лечении заболеваний пародонта» ГС. Рунова на основании полученных экспериментальных данных убедительно показала эффективность разработанного оригинального метода лечения хронического пародонтита при использовании культивированных аллофибробластов и твердой мозговой оболочки.

Около двух лет в некоторых стоматологических клиниках был использован аллогенный материал - АФБ, культивированные на гранулах коллапана. Препарат, состоящий из коллапана и АФБ по данным клинического наблюдения обладает значительно более выраженным остеоиндуктивным потенциалом, чем при использовании их по отдельности или других остеопластических препаратов. Об этом свидетельствуют клинические данные, а также нарастание уровня плотности и высоты костной ткани по данным рентгенографии и остеоденситометрии. Этот комплекс интересен как наличием в нем живой тканевой клетки, так и присутствием коллагеновых волокон в грануле коллапана. Коллаген является одним из основных фибриллярных белков соединительной ткани. Большая часть коллагена обнаруживается в составе коллагеновых волокон, составляющих основу соединительной ткани пародонта.

Этот комплекс использован при хирургических вмешательствах на пародонте у 38 пациентов с тяжелыми формами пародонтита: глубиной костных дефектов более 10 мм, 1-2 стенным или кольцеобразным разрушением кости. На протяжение всего периода применения и наблюдения пациентов, у которых использовали АФБ, мы не отмечали отрицательных результатов, каких-либо осложнений и нежелательной тканевой реакции. Положительные клинические результаты сопровождались улучшением состояния слизистой оболочки альвеолярного отростка, его плотного сращения с тканями зуба, уменьшением или исчезновением подвижности зубов.

Таким образом, опыт использования АФБ для лечения глубоких ожогов и заболеваний пародонта показал перспективность широкого внедрения в клеточных культур в лечебную практику.

УДК 87.270715

Н.В. Шишова, А.И. Абилов, Э.Н. Гахова, Г.Ю. Максудов

(Институт биофизики клетки РАН, Всероссийский государственный НИИ животноводства, Московский зоопарк)

ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭПИДИДИМАЛЬНОГО СЕМЕНИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ *POST 'MORTEM'* ДЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КРИОБАНКОВ

Создание криоколлекций генетического материала редких видов - один из перспективных способов сохранения биоразнообразия. Однако получение генетического материала от животных в природе сложно и дорого. В то же время существует малоиспользуемый резерв генетического материала ценных животных. Это половые

продукты животных, павших в зоопарках и питомниках.

Наиболее доступно посмертное извлечение и консервация эпидидимальных сперматозоидов. Возможность использования таких сперматозоидов для осеменения была показана более 100 лет тому назад И.И. Ивановым, а в 70-х-80-х годах XX века была продемонстрирована возможность их криоконсервации (Шайдулин, Ролдугин, 1986; Сипко и др., 1993; Абилов н др., 1998; Krzyvinski, 1981; Jewgenow et al., 1997; и пр.). Тем не менее, до сих пор этот метод используется редко.

Мы проанализировали данные об использовании эпидидимального семени постмортального периода для криоконсервации. Цель предпринятого анализа - определение наиболее перспективных направлений исследований, которые позволили бы повысить эффективность использования этого источника генетического материала для создания криоколлекций.

Длительность выживаемости эпидидимальных сперматозоидов после смерти животного

Как правило, постмортальное семя выделяют и криоконсервируют сразу после смерти животных. Однако, при неожиданной гибели животных очень сложно, а часто невозможно организовать выделение и криоконсервацию посмертного материала в сжатые сроки. Это один из основных факторов, препятствующих более широкому использованию постмортального материала млекопитающих для пополнения криоколлекций.

В то же время известно, что сперматозоиды в охлажденных половых органах самцов остаются живыми достаточно длительное время. У многих млекопитающих сперматозоиды сохраняют двигательную активность спустя 7-10 дней после смерти. Нами было показано сохранение оплодотворяющей способности сперматозоидов зубра через сутки и более после смерти организма (Абилов и др., 1998).

Приведенные данные свидетельствуют, что при внезапной гибели ценных животных сотрудники зоопарков или питомников имеют некоторый запас времени для организации доставки половых органов в центры по криоконсервации семени.

В то же время проблема требует более тщательного исследования. Выживаемость семени варьирует у разных видов. Крайне мало данных о характере постмортальных физиологических изменениях и механизмах клеточной смерти сперматозоидов. Не отработаны методы компенсации негативных изменений сперматозоидов в постмортальный период.

Роль сезонности

Как правило, работы по криоконсервации семени диких видов, приурочены к периоду гона. Этот период короток, и гибель животных не так часто с ним совпадает. Благодаря исследованиям на диких видах, мы знаем, что активный сперматогенез у большинства млекопитающих значительно превышает период гона. Так, что возможности использования постмортального материала млекопитающих, видимо, достаточно широки. В то же время далеко не для всех видов животных имеются данные о длительности активного сперматогенеза в течение года, и еще меньше данных о динамике качества семени. Исследования в этой области крайне необходимы.

Другая проблема - сезонные колебания криорезистентности сперматозоидов. Сравнительный материал по криорезистентности сперматозоидов в разные сезоны года существует только для сельскохозяйственных животных. Дикие виды в этом отношении практически не изучены. Мы в своих исследованиях столкнулись с существенными сезонными вариациями криорезистентности семени) суслика (Шишова, 2000). Не исключено, что вариабельность криорезистентности может быть обнаружена и у других видов.

Физиологические отличия эпидидимального и эякулированного семени

Существующие методы криоконсервации семени (за исключением семени мелких грызунов) разрабатывались для эякулята. При замораживании эпидидимального семени обычно применяют стандартные методьт для эякулята. Однако физиология эпидидимальных сперматозоидов заметно отличается от эякулированных, поэтому оптимальные способы криоконсервации эпидидимального семени могут отличаться от режимов, оптимальных для эякулированной спермы.

Активация движения и дыхания сперматозоидов

В эпидидимисе сперматозоиды неподвижны, их подвижность инициируется после эякуляции. Одновременно с этим изменяется метаболическая активность. В то же время известно, что сперматозоиды тем лучше выдерживают охлаждение и криоконсервацию, чем ниже у них уровень метаболизма. Кажется логичным при криоконсервировании эпидидимального семени воспользоваться их естественным пониженным уров-

нем метаболизма. Однако наиболее распространенные криопротектирующие растворы вызывают активацию сперматозоидов, хотя и в значительно меньшей степени по сравнению с культуральными средами. Разработка сред, препятствующих активации движения сперматозоидов может оказатья достаточно перспективным направлением при совершенствовании методов криоконсервации эпидидимального семени.

Стабилизация хроматина

Последний этап конденсации хроматина при созревании сперматозоидов происходит уже после эякуляции. Считается, что конденсация хроматина способствует его устойчивости. В связи с этим не исключено, что при идентичных методах криоконсервации хроматин эпидидимальных сперматозоидов может повреждаться сильнее, чем эякулированных.

Антиокислительная активность

Высокое содержание полиненасыщенных жирных кислот в плазматической мембране сперматозоидов делает их уязвимыми для перекисного окисления липидов. Считается, что собственная антиоксидантная активность сперматозоидов млекопитающих сравнительно невысока и естественная защита сперматозоидов в основном осуществляется семенной плазмой. Лишенные семенной плазмы эпидидимальные сперматозоиды могут оказаться более уязвимыми для перекисного окисления липидов по сравнению с эякулированными.

Изменения плазматических мембран сперматозоидов

Эякуляция приводит к изменению состава и свойств плазматической мембраны сперматозоидов. Измененяется белковый и фосфолипидный состав мембран, белково-липидное и холестерин-фосфолипидное соотношение, коэффициент текучести и гидратации.

Таким образом, для повышения эффективности использования генетического материала павших животных с целью пополнения криоколлекций необходимы исследования в следующих направлениях:

- сезонные колебания сперматогенеза и качества семени диких видов,
- исследования механизмов гибели сперматозоидов после смерти организма,
- более подробное исследование физиологии эпидидимальных сперматозоидов,
- разработка специализированных криопротектирующих сред для эпидидимального семени постмортального периода.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований, грант № 06-04-49268-а

SUMMARY

The review deals with the problem of cryoconservatinn of mammalian post portcm epidydimal semen. Main problems, modern situation and perspective directions of investigations has been discussed.

Литература

1. Абилов А.И., Комбарова Н.А., Силко Т.П., Киселев ЕХ Криоконсервации семени зубров - вклад в решение проблемы сохранения вида. Международная научно-практическая конференция «Эколого-геяетические проблемы животноводства и экологически безопасные технологии производства продуктов питания». Тезисы докл. Дубровицы, 1998,100-101.
2. Сипко Т.П., Абилов А.И., Шишова Н.В. Криоконсервация постмортальной спермы оленей. Биофизика живой клетки. 1994, б, 127-128.
3. Шайдулин И.Н., Ролдугин В.Н. Возможна отдаленная гибридизация. Овцеводство, 1986,4,40-41.
4. Шишова Н.В. Криоконсерваци эпидидимального семени млекопитающих с разным сезонным ритмом репродукции в целях сохранения биоразнообразия. Автореферат дисс канд.биол.наук, Дубровицы, 2006.
5. Jewgenow K., Blottner S., Lengwinat T.l New methods for gamete rescue from gonads of nondomestic felids. J Reprod Fertil. Suppl. 1997,51,33-39.
6. Krzyvinski A. Freezing of post mortem collekted semen from Moos and Red Deer. Acta Theriologica, 1981,26,28,424-426

УДК 636.619.2.32/.38

МХ. Насибов, Н.С. Марзанов, Ю.В. Саморуков, М.Ю. Озеров, А.Н. Арилов, Б.Б. Лхасаранов, В.А. Гайков

(ВИЖ)

СОХРАНЕНИЕ БИОРАЗНООБРАЗИЯ ЖИВОТНЫХ - ОСНОВА ЖИЗНЕОБЕСПЕЧЕНИЯ НАСЕЛЕНИЯ МИРА

Наряду с клонированием, сохранение биоразнообразия народов, растений и животных по своей значимости входит в десятку мировых проблем. Получение разносторонней продукции питания стало возможным благодаря наличию биоразнооб-